

·基础研究·

## 高压氧对实验兔脑血管前、后循环超微结构的影响\*

刘志艳<sup>1</sup> 李玲<sup>2</sup> 梁成<sup>1</sup> 蔡宏斌<sup>1</sup> 张兰芳<sup>1</sup> 张翠杰<sup>3</sup> 宋兵<sup>4</sup> 葛朝明<sup>1,5</sup>

### 摘要

**目的:**观察高压氧(HBO)作用下及停用2d后,实验兔颈内动脉和基底动脉血管壁超微结构的变化。探讨高压氧作用下前循环收缩,后循环扩张的可能机制。

**方法:**30只实验兔随机分为实验组、对照组和HBO+休息2d组,实验组暴露于2.2 ATA HBO下60min,连续3d,对照组正常饲养,HBO+休息2d组同实验组经HBO处理3d后正常饲养2d。电镜下分别观察3组实验兔颈内动脉和基底动脉超微结构的变化。

**结果:**实验组颈内动脉与对照组比较,其血管壁内弹力膜疏松,脂质空泡形成,内皮细胞及细胞器呈轻度变性;基底动脉实验组与对照组比较,其超微结构变化不明显。HBO+休息2d组基底动脉和颈内动脉超微结构与对照组比较,基本恢复正常。

**结论:**HBO作用下颈内动脉和基底动脉内膜的形态学改变,提示HBO可能影响了线粒体内氧化磷酸化过程,从而出现脑组织供能不足,进而启动脑血管自动调节机制使前循环血管收缩,而供应脑干的后循环血管扩张,以提供充足的血供维持正常的物质代谢。在2.2 ATA HBO作用下,对脑血管壁超微结构造成的轻度损伤是暂时的、可逆的。

**关键词** 高压氧;颈内动脉;基底动脉;超微结构

中图分类号: R493, R743.3 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2012)-01-0022-04

**Effects of hyperbaric oxygen on ultrastructures of cerebrovascular anterior and posterior circulation in rabbits/LIU Zhiyan, LI Ling, LIANG Cheng, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2012, 27 (1): 22—25**

### Abstract

**Objective:**To investigate the changes of ultrastructures of internal carotid artery(ICA) and basal artery(BA) after hyperbaric oxygen(HBO) and rest for 2d after HBO.

**Method:** A total of 30 rabbits were randomly divided into three groups: trial group, control group and HBO+rest 2d group. The rabbits of trial group were exposed to HBO at 2.2 ATA for 60min with 3d. The rabbits of control group were fed normally. The rabbits of HBO+rest 2d group were exposed to HBO at 2.2 ATA for 60min with 3d and then fed normally for 2d. The ultrastructures of ICA and BA of rabbits in three groups were examined with electron microscope.

**Result:**In trial group, internal elastic lumina of ICA loosened and lipid vacuoles formed. endothelial cells and organelles degenerated slightly. Ultrastructures of BA did not change obviously. Compared to control group, ultrastructures of BA and ICA returned to basal level in HBO+rest 2d group.

**Conclusion:**The morphologic changes of ICA and BA after HBO showed that HBO could influence mitochondrial oxidative phosphorylation. The deficiency of cerebral energy would turned with cerebrovascular self-regulating mechanism. The constriction of anterior circulation and dilatation of posterior circulation could supply ample blood and

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2012.01.007

\*基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金-自由探索项目(lzujbky-2010-208)

1 兰州大学第二医院神经内科高压氧中心,兰州,730030; 2 兰州大学第二医院神经精神科; 3 兰州大学第一医院高压氧中心; 4 兰州大学第一医院心外科; 5 通讯作者

作者简介:刘志艳,女,硕士,住院医师; 收稿日期:2011-04-15

normal substance metabolism. The effects of HBO at 2.2 ATA on ultrastructures and ET-1, eNOS of ICA and BA were temporary and reversible in this study.

**Author's address** Department of Neurology, The Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, 730030

**Key word** hyperbaric oxygen; internal carotid artery; basal artery; ultrastructure

高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)治疗用于临床以来,研究人员发现HBO作用下,健康人和脑部疾病患者均可出现后循环扩张、前循环收缩的现象,对这种现象机制的研究国内外未见报告。本课题通过电镜下观察实验组、对照组和HBO+休息2d组实验兔颈内动脉和基底动脉血管壁超微结构的变化,探讨高压氧作用下前循环收缩、后循环扩张的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

新西兰白兔30只(兰州大学实验动物中心),雌雄不限,体重2.0—2.5kg,平均2.3kg,随机分为实验组(10只)、对照组(10只)和HBO+休息2d组(10只),实验组给予HBO处理,对照组正常饲养,HBO+休息2d组同实验组经HBO处理3d后正常饲养2d。戊巴比妥钠,手术器械,戊二醛固定液,JEOL-1230透射电镜(日本电子公司),山东烟台冰轮氧舱厂中型高低压舱(兰州大学第一医院)。

### 1.2 HBO处理

将实验组和HBO+休息2d组实验兔置于特制密闭实验箱中,箱顶设供氧管入口和出气口,放入高压氧舱,实验前给纯氧3—5min洗箱,测得箱内氧浓度>98%为止,采用直排式给氧,100%纯氧,约0.01MPa/min匀速加压15min,压力2.2ATA,稳压吸氧60min,匀速减压25min,1次/d,每天进出舱时间固定,连续3d。

### 1.3 灌注固定

所有实验兔给予3%戊巴比妥钠麻醉,暴露心脏,250ml生理盐水通过自制针头从主动脉根部缓慢滴注50min,灌注成功后取颈内动脉及基底动脉,分别置入3%戊二醛固定液中,标记并于4℃冷藏。

### 1.4 电镜标本

颈内动脉和基底动脉分别置入3%戊二醛固定液2h后,1%锇酸固定1.5h,将组织置入Epan812包埋剂浸透,半薄切片定位,超薄切片经枸橼酸铅乙酸

铀染色,JEOL-1230透射电镜观察并摄片。

## 2 结果

电镜下实验组颈内动脉血管壁内弹力膜明显肿胀,与内皮细胞连接疏松,弹力层及平滑肌痉挛扭曲,皱褶增多且加深,髓样物质及脂质空泡形成,肌丝排列紊乱,内皮细胞包膜部分不完整,个别内皮细胞脱落(图1),但内皮细胞间呈紧密连接,胞内线粒体肿胀,嵴紊乱,胞质空泡化,胞核内染色质边集(图2)。实验组基底动脉管壁内弹力膜及平滑肌细胞排列整齐,未见明显皱褶,内皮细胞完整(图3),细胞之间紧密连接大部分消失,呈缝隙连接,胞内线粒体等细胞器完整,结构正常,可见内皮细胞特有的杆状细胞器W-P小体(图4)。对照组颈内动脉和基底动脉内皮细胞与内弹力膜连接紧密,内弹力膜下未见髓样物质,内皮细胞间紧密连接明显,细胞器结构致密,无空泡化(图5)。HBO+休息2d组颈内动脉和基底动脉内弹力膜及平滑肌层排列整齐,未见明显皱褶,内皮细胞包膜完整,细胞器结构完整(图6)。

## 3 讨论

HBO治疗用于临床以来,研究人员发现HBO作用下,正常健康人和脑部疾病患者均可出现前循环收缩,后循环扩张的现象,并通过动物实验进行验证。Demchenko IT<sup>[1]</sup>通过动物实验观察到,HBO可使颈内动脉收缩,脑血流量减少,而椎-基底动脉系统作用则相反,因此脑干供血增加。Schöler M<sup>[2]</sup>曾报道在0.2MPa氧压下吸纯氧,前循环脑血流量减少21%,颅内压降低36%,脑氧耗量降低38%,椎动脉血流量可增加18%,推断颅内压降低是由于HBO使脑前循环血流量降低的缘故。而对这种现象发生的机制国内外未见报道。查阅国内外相关资料,当机体在HBO环境下,随着氧舱压力及血氧分压升高,血管收缩可能与以下因素有关:①血氧分压升高可使跨壁压力(指血管内外的压力差,  $P_1 - P_2$ )改变,从而增强微血管平滑肌紧张性,血管收缩<sup>[3]</sup>;②氧分压高

图1 实验组颈内动脉内弹力膜(A)下脂质空泡形成, EC(B)部分脱落(TEM, × 3000)

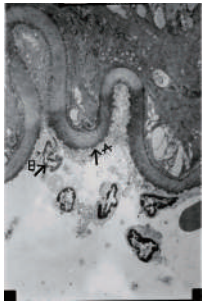


图2 实验组颈内动脉内皮细胞线粒体(↑)肿胀, 胞质空泡化(TEM, × 12000)

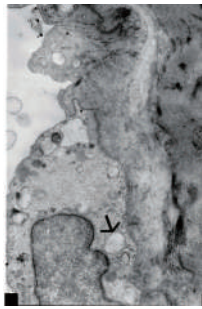


图3 实验组基底动脉内弹力膜及平滑肌细胞排列整齐, 未见肿胀(TEM, × 3000)

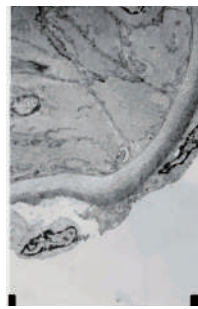


图4 实验组基底动脉内皮细胞间呈缝隙连接(A), 线粒体结构正常(B), 可见W-P小体(C)(TEM, × 25000)

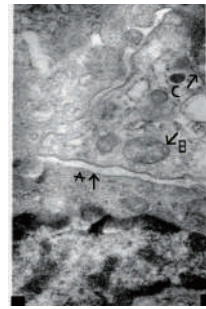


图5 对照组颈内动脉和基底动脉血管壁内弹力膜、平滑肌、内皮细胞及细胞器结构正常(TEM, × 6000)

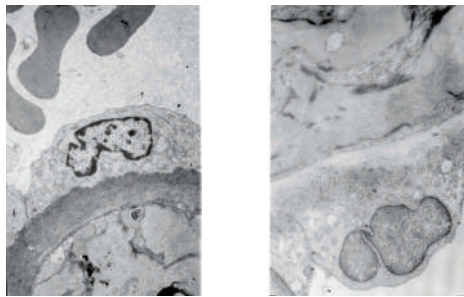
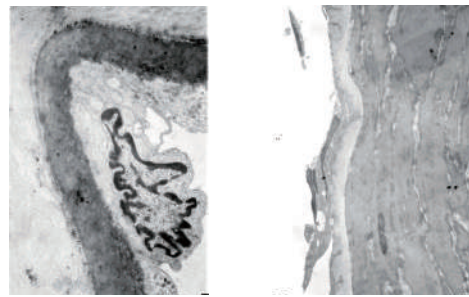


图6 HBO+休息2d组颈内动脉和基底动脉血管壁内弹力膜、平滑肌、内皮细胞及细胞器结构基本恢复正常(TEM, × 8000)、(TEM, × 3000)



使肥大细胞释放组织胺减少,局部血管收缩,同时,腺苷、腺苷酸等舒血管物质减少<sup>[4]</sup>;③HBO使血CO<sub>2</sub>浓度降低,血管收缩;④HBO使血管内压升高,可直接刺激微动脉、微静脉和毛细血管前括约肌,使括约肌收缩,血管口径缩小<sup>[5]</sup>。观察健康人在2.0—3.5ATA下吸纯氧时,机体脂质过氧化反应持续上升,抗氧化防御系统先活化后抑制<sup>[6]</sup>。而吸入氧分压越高,吸氧时间越长,机体产生的自由基就越多,在一定范围内,自由基的产生与消除维持在平衡状态,当超过调节范围,将对机体产生损害作用<sup>[7]</sup>。有报道HBO对猪晶状体纤维细胞线粒体的损伤,可降低线粒体产生ATP的功能<sup>[8]</sup>。本实验中HBO连续作用于实验兔3d,电镜下HBO组实验兔颈内动脉血管壁内皮细胞内线粒体肿胀,胞质空泡化,包膜部分不完整,弹力层及平滑肌痉挛扭曲,内弹力膜下髓样物质及空泡形成;基底动脉管壁内皮细胞完整,细胞之间呈缝隙连接,细胞器完整,结构正常,内弹力膜及

平滑肌细胞排列整齐,可能是HBO作用下实验兔体内氧含量及产生的氧自由基增多,当自由基引起的脂质过氧化反应和体内抗氧化作用平衡打破时,血管内皮细胞线粒体、内质网等细胞器的脂质膜结构开始改变,线粒体内氧化磷酸化过程受阻,脑组织供能开始出现不足,脑血管自动调节机制使前循环血管收缩,血流量减少,保持颅内压的平衡;而供应脑干的后循环血管扩张,提供充足的血供维持正常的物质代谢。因此我们认为颈内动脉超微结构轻度变性可能与HBO作用下血管收缩,血流量减少,脂质过氧化物堆积有关;而基底动脉超微结构基本正常可能是HBO作用下血管舒张,血流量增加,代谢产物及时清除的结果。

葛环等<sup>[9]</sup>采用2.0 ATA,给纯氧60min,1次/日,连续21次,结果发现3d后,神经元的线粒体、内质网、高尔基复合体出现损伤性改变,随着处置次数增加,损伤逐渐加重,线粒体肿胀,膜明显被破坏,胞质



内出现脂粒、空泡,RER脱颗粒。丁建章等<sup>[10]</sup>报道了大鼠经一次HBO处理(2.5ATA,给纯氧3h),即引起额叶皮质神经元细胞核固缩,核周间隙增宽,但以上作者并未观察停止HBO处理后,组织细胞超微结构的改变是否可恢复。鲍锦华等<sup>[11]</sup>观察HBO对正常大鼠海马神经元结构的影响的实验中,将大鼠暴露于2.5ATA的HBO环境下60min,1次/日,连续20d,电镜下线粒体等细胞器发生轻度变性,停HBO处理20d后,上述变化基本恢复正常。本实验中,HBO+休息2d组颈内动脉血管壁内弹力膜及平滑肌层排列整齐,内弹力膜下的髓样物质消失,内皮细胞与内弹力膜连接紧密,内皮细胞及细胞器完整,结构恢复正常,脂质空泡消失,基底动脉血管壁内弹力膜及平滑肌层平坦,内皮细胞间恢复紧密连接,表明HBO在2.2ATA下,治疗时间窗内(60min×3d),对脑血管壁超微结构造成的轻度损伤是暂时的,可逆的。

#### 参考文献

- [1] Demchenko IT, Luchakov YI, Moskvin AN. Cerebral blood flow and brain oxygenation in rats breathing oxygen under pressure[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2005, 25(10): 1288—300.
- [2] Schöler M, Lenz C, Kuschinsky W. Increased arterial oxygen content by artificial haemoglobin induces a decrease in regional cerebral blood flow and decreased regional cerebral oxygen delivery[J]. Eur J Anaesthesiol, 2009, 26(3): 245—252.
- [3] 李红玲,刘艳萍,张会萍.脑出血的高压氧治疗[J].中国康复医学杂志,2010,25(9):909—912.
- [4] 蔡宏斌,葛朝明,赵翀,等.不同压力高压氧预处理与大鼠脑缺血灌注损伤缺血半暗带神经元细胞凋亡[J].中国康复医学杂志,2011,26(1):50—54.
- [5] 童晓轩,肖平田,吴何凤.高压氧对脑出血后血管新生影响的研究进展[J].中国康复医学杂志,2011,26(4):398—341.
- [6] Bader N, Bosy-Westphal A, Koch A, et al. Effect of hyperbaric oxygen and vitamin C and E supplementation on biomarkers of oxidative stress in healthy men[J]. Br J Nutr, 2007, 98(4): 826—833.
- [7] Xue L, Yu Q, Zhang H, et al. Effect of large dose hyperbaric oxygenation therapy on prognosis and oxidative stress of acute permanent cerebral ischemic stroke in rats[J]. Neurol Res, 2008, 30(4): 389—393.
- [8] Freeland CD, Gilliland KO, Mekeel HE, et al. Ultrastructural characterization and Fourier analysis of fiber cell cytoplasm in the hyperbaric oxygen treated guinea pig lens opacification model[J]. Exp Eye Res, 2003, 76(4): 405—415.
- [9] 葛环,高春锦,杨捷云,等.高压氧对正常大鼠神经元超微结构的影响[J].高压氧医学杂志,1995,4(2):90.
- [10] 丁建章,官颖鹏,戴伟,等.高压氧对大鼠心肺结构的影响[J].中华航海医学杂志,1999,6(4):230—232.
- [11] 鲍锦华,刘燕,冯小东.高压氧对正常大鼠海马神经元结构的影响. [J].第三军医大学学报,2000,22(7):664—666.

## 北京大学第九届全国肌电图与临床神经生理学习班招生通知

北京大学第三医院神经内科举办《北京大学第九届全国肌电图与临床神经生理学习班》拟定于2012年8月6日至10日在北京召开。本届学习班集中了北京大学临床电生理学领域雄厚的师资力量,并邀请国内知名专家共同参与授课。

学习班内容包括肌电图、神经传导测定、诱发电位等技术在神经系统疾病诊断治疗中的应用,以及在骨科、手外科、神经外科、运动医学、康复等相关疾病的术中监护与应用。参会代表将获得国家级继续医学教育I类学分8分。

欢迎全国神经内科、神经外科、骨科、康复科、运动医学、手外科及其他相关科室的医师和技术人员报名参加。

报名Email地址:bssn1108@sina.com,电话:15901312366 01082265811 北京大学第三医院神经内科 张华纲(欢迎网上报名参会代表,请注明学习班名称,姓名,所在单位,联系电话及E-mail)。

来信地址:100191 北京市海淀区花园北路49号北京大学第三医院神经内科 张华纲收 请注明联系电话和Email地址 截止日期:2012年6月30日

北京大学第三医院神经内科